

ビタミンAの体内移動に関する研究とくに甲状腺機能との関連性について

著者	大庭 清
号	257
発行年	1979
URL	http://hdl.handle.net/10097/16942

氏 名（本籍）	おお 大 ば 庭 きよし 清
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	農 博 第 2 5 7 号
学位授与年月日	昭和 5 5 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項 該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院農学研究科 （博士課程）食糧化学専攻
学位論文題目	ビタミン A の体内移動に関する研究 とくに甲状腺機能との関連性について
論文審査委員（主 査）	教授 木 村 修 一 教授 松 本 達 郎 教授 金 田 尚 志

論文内容要旨

近年、ビタミンAに関する研究の中でめざましい発展をしているものの一つとしてビタミンAの体内での動態があり、とくに血中ビタミンAの存在様式についての研究が挙げられる。すなわち血中ビタミンAは特異的な結合蛋白である Retinol binding protein (RBP) と結合しており、さらにRBPは甲状腺ホルモン結合蛋白の一つとして知られている Thyroxine binding prealbumin (TBPAまたはPA) と1:1のモル比で結合していることが明らかになった。このようなRBP-PA複合体の役割を明らかにすることは生体内でのビタミンAの機能を理解するうえで重要な鍵になると考えられる。そこで本研究ではこの事実すなわちチロキシンとビタミンAが共通の担体であるPAに結合していることに着目し、甲状腺機能発現におけるRBP-PA複合体の意義を明らかにする目的で、甲状腺機能とRBP-PA複合体との関連性について検討を行なった。

第I章 ビタミンA欠乏状態における甲状腺機能および血中甲状腺ホルモンの存在形態

RBP-PA複合体は血中におけるビタミンAの転送に重要な意義をもつとともに、チロキシンの動態にも重要な影響を及ぼしていることが予想される。したがって、血中RBPが極端に減少しRBPとPAの複合体形成が阻害されるビタミンA欠乏状態におけるチロキシンの挙動について検討を行なった。

その結果、本実験においてはビタミンA欠乏時に甲状腺機能が低下し、血中チロキシンレベルも低下することが認められた(表1)。また、血中チロキシンの血清蛋白への結合分布をin vivoで観察することによってPAのチロキシン結合能を測定した結果、ビタミンA欠乏状態ではPAに結合するチロキシンの割合は減少し、逆にThyroxine binding globulin (TBG)に結合する割合が増加していることが認められた(図1)。

すなわち、ビタミンA欠乏は甲状腺機能に影響を及ぼし血中チロキシンレベルを低下させ、また血清蛋白との結合分布をも変化させ、担体の一つであるRBP-PA複合体の存在様式にも影響を及ぼすことがわかった。このようなチロキシンの存在状態の変化はビタミンAが甲状腺機能と密接な関係にあることを示している。

第II章 血中ビタミンAの存在様式とRBP-PA複合体の精製

本章ではRBP-PA複合体自身の挙動を正確に把握するために担体の同定および定量を目的として複合体の単離、精製を試みた。ラット血清からRBP-PA複合体を単離する場合アルブミンとの分離が非常に困難であるため本実験では調製用電気泳動によって複合体をRBPとPAのそれぞれの担体に解離し、同時にアルブミンとの分離を行なった(図4)。その結果、RBPおよびPAをそれぞれ単離することができ、性質について若干の検討を行なった。PA coupled sepharose 4Bを用いたaffinity chromatographyによると、

RBP と PA との結合は生理的条件のイオン強度や pH でおこり、低イオン強度、アルカリ性 pH で解離することが認められた。両者の結合はイオン結合あるいは水素結合、または両者が同時に関与していると考えられる。またラット血清には PA-1 と PA-2 の 2 種類の PA が存在し、チロキシンを結合しているのは PA-2 であり、RBP と複合体を形成している PA と一致することが認められた (図 5)。

第Ⅲ章 PA と RBP の代謝的関連性について

とくに PA の役割の研究

生体内にビタミン A が涸渇し、肝臓からの RBP の分泌が抑制され血中 RBP が極端に減少するビタミン A 欠乏状態と、RBP の分泌が急速に促進される回復時における血中 PA の挙動を観察することによって、両担体のとくに分泌過程での関連性について検討を行った。このような目的のためには血中 PA を特異的に定量する必要があり、本章では第Ⅱ章で単離した PA を抗原として家兎に免疫を行い、PA に対する抗血清を作製した。次にこの抗血清を用いて PA を免疫学的に定量し、血中 PA の挙動を観察することができた。

先に武藤らによってビタミン A 欠乏状態およびビタミン A 投与時における血中ビタミン A の挙動は血中 RBP の挙動と一致することが認められており、このような状態における血中 PA レベルのスパンスは本実験の結果からは、血中ビタミン A レベルのそれに比べ緩慢でその変動も少ないことがわかり、明らかに RBP とは挙動を異にしていることが認められた (図 6)。したがって、RBP と PA はそれぞれ別々に調節されていると考えられる。すなわち両担体はそれぞれ独立に肝臓で合成、分泌され、血中で複合体を形成するものと考えられる。

第Ⅳ章 ビタミン A の利用と RBP - PA 複合体形成に及ぼす甲状腺機能の影響について

本研究第Ⅰ章において甲状腺機能が複合体の存在状態に影響を及ぼすことが示唆された。また従来、チロキシンの小腸におけるビタミン A の吸収を促進することが報告されており、甲状腺機能がビタミン A 利用に大いに関与している可能性が考えられる。そこで本章では、チロキシンがビタミン A の体内移動にどのような影響を及ぼすかについて検討を行なった。

チロキシン添加食で長期間飼育した場合には、肝臓における貯蔵ビタミン A の減少が大きく、肝臓から血中へのビタミン A の放出が促進されていることが示唆された。さらに、血中ビタミン A の減少も促進されている結果が得られた (表 2, 図 7)。このような原因として PA と結合していない遊離 RBP の半減期が短いことから、高チロキシンレベルでは複

合体形成が影響を受けていることが考えられ、次にこの点について検討を行なった。すなわち、血清に抗ラットPA抗体を添加して生じた沈降物中のビタミンAおよびチロキシンを測定した結果、チロキシン添加群では明らかにPAに結合しているチロキシンの割合が増加し、また遊離RBPが相対的に増加しているような結果が得られた(表3)。

以上のことは、この遊離RBPに結合しているビタミンAの方が組織にとりこまれやすいということがいわれていることから、チロキシン投与群では血中ビタミンAの利用が結果的に促進されることになり、その消失が高まっていることを裏づけるものであると考えられる。

第V章 総 括

ビタミンAの利用という観点から、血中におけるRBP-PA複合体がチロキシンによってどのような影響を受けるかについて検討を行なった。従来の知見と本研究の成果から図8のようなschemeが考えられると思われる。すなわち、正常な状態ではRBPもPAも肝で合成され、それぞれ独立して血中へ分泌され、血中で安定な複合体を形成するものと考えられる。PAと結合しない遊離RBP・VAは細胞にビタミンAをとりこませる働きをしていると考えられ、一方甲状腺より分泌されたチロキシンはラットにおいてはそのほとんどがPAと結合し、またチロキシン過剰状態になった場合、何らかの理由で遊離RBP・VAが複合体に比べ相対的に増加する傾向が認められた。このことは結果的に、チロキシンが血中においてRBP-PA複合体の解離に関与し、チロキシン過剰状態では遊離RBP・VAのプールサイズを増加させ、血中ビタミンAの代謝回転を速めている可能性を示している。事実肝中ビタミンAはチロキシン投与で明らかに減少が認められた。

以上のような機構をさらにビタミンA欠乏動物について考えてみると、A欠乏状態では第I章で示したように、甲状腺機能が低下し、血中チロキシンの割合は減少する。このことは相対的に遊離のRBPを減少させ、細胞へのビタミン供給が抑制され、血中ビタミンAの消失が制限されることが予想される。すなわち、ビタミンAの供給が少なくなった場合、甲状腺機能を介してAの消失を防ぐようなフィードバックのコントロールが働いていると考えられるのである。

Table 1. The effects of vitamin A deficiency on thyroid weight and serum thyroxine concentration.

Groups	Body weight (g)	Thyroid weight(mg) Body weight(100g)	Serum thyroxine (µg/dl)
Control	285 ± 11.8	3.1 ± 0.26	5.0 ± 0.16
VA-deficient	210 ± 6.08	*5.5 ± 0.12	**2.5 ± 0.31

All values listed are mean ± S.E.M. for five rats.

* P<0.05 compared with control.

** P<0.01 compared with control.

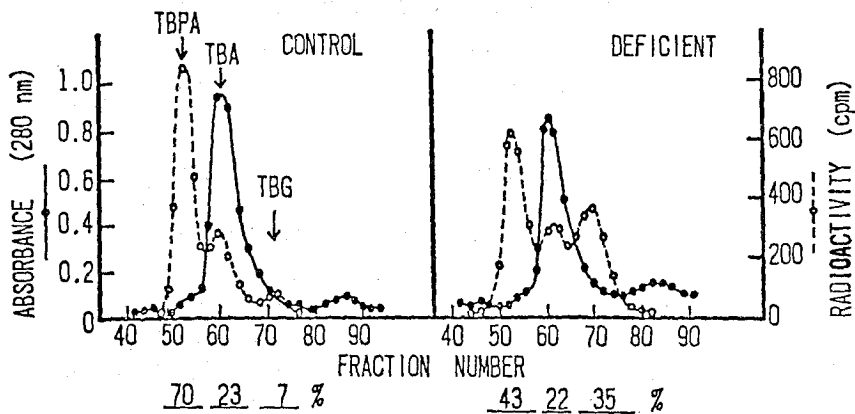


Fig. 1. Thyroxine distribution in rat serum protein. Experimental procedure was noted in the section of materials and methods. Pooled serum of 3 rats was used in each group. The number underlined represents the percentage of radioactivity in each collected fraction.

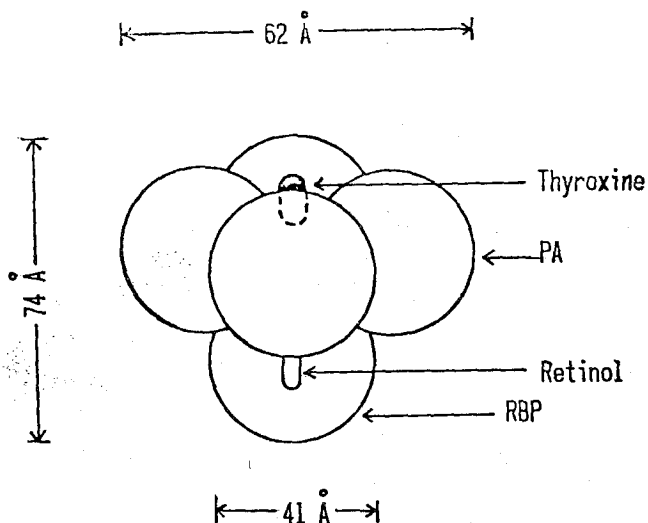


Fig. 2. Model for the RBP-PA complex.

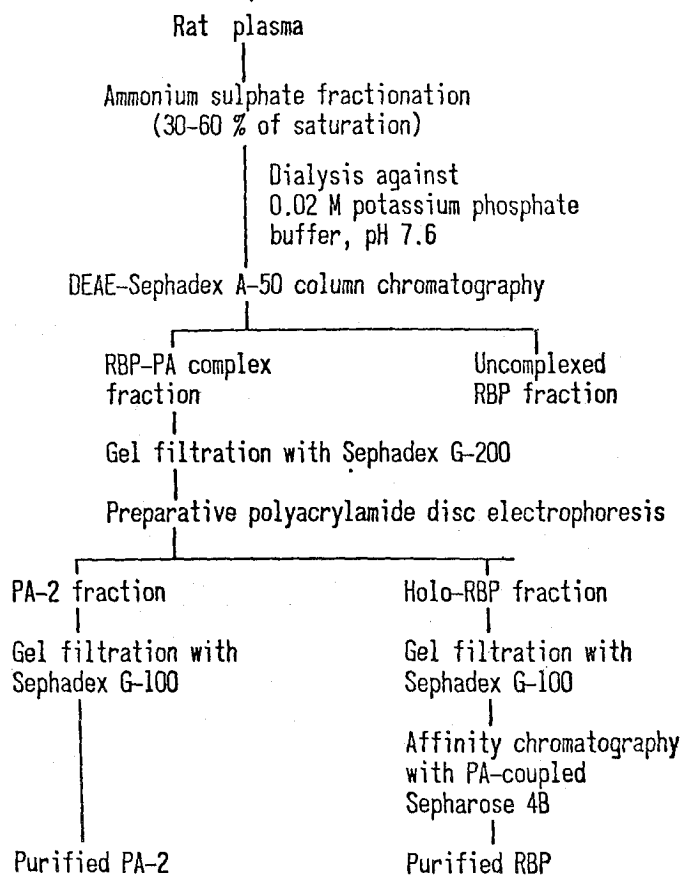


Fig. 3. Purification of RBP-PA complex from rat plasma.

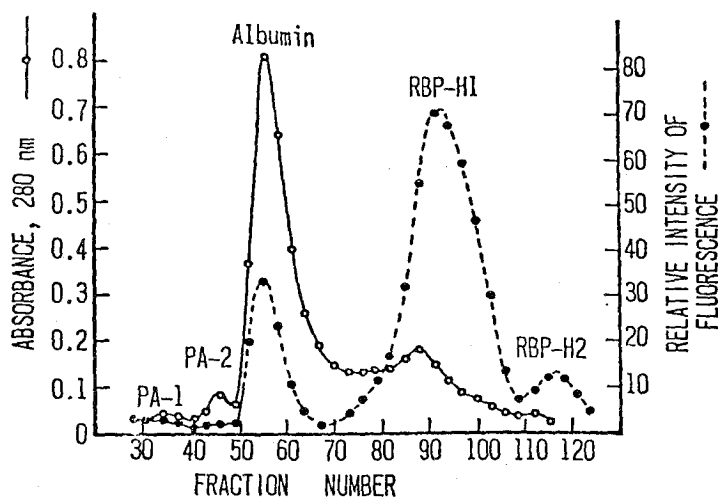


Fig. 4. Preparative polyacrylamide gel electrophoresis of the RBP obtained as a protein-protein complex after G-200 chromatography. Approximately 100 mg of lyophilized protein were charged. The major portion of the electrophoretic run was carried at 600 volts with 30 ma current. Fraction of 7 ml each was collected at a flow rate of about 35 ml per hour.

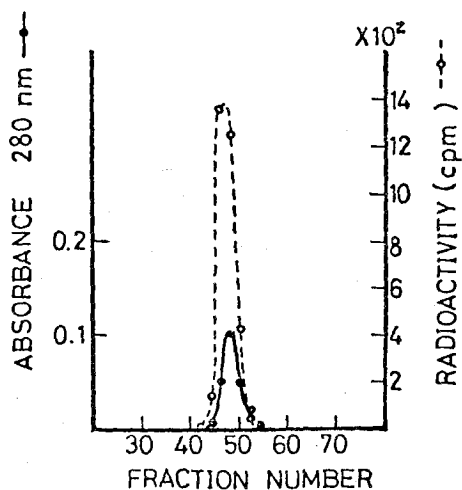


Fig. 5. Preparative polyacrylamide disc electrophoresis of TBPA. The mixture of PA from RBP-PA complex and TBPA was applied to the gel column of 7.0 cm height.

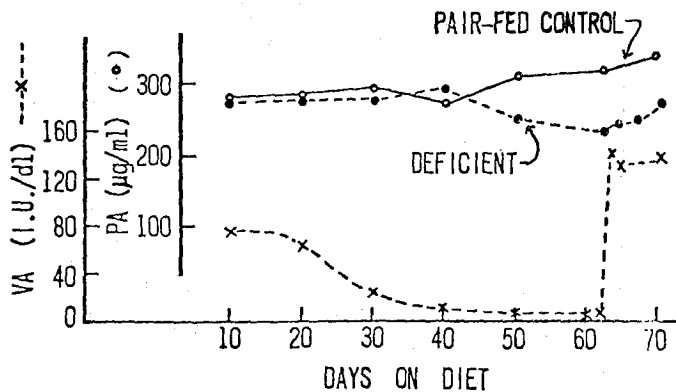


Fig. 6. The effects of dietary vitamin A status the serum prealbumin and vitamin A levels. The arrow denotes the vitamin A repletion.

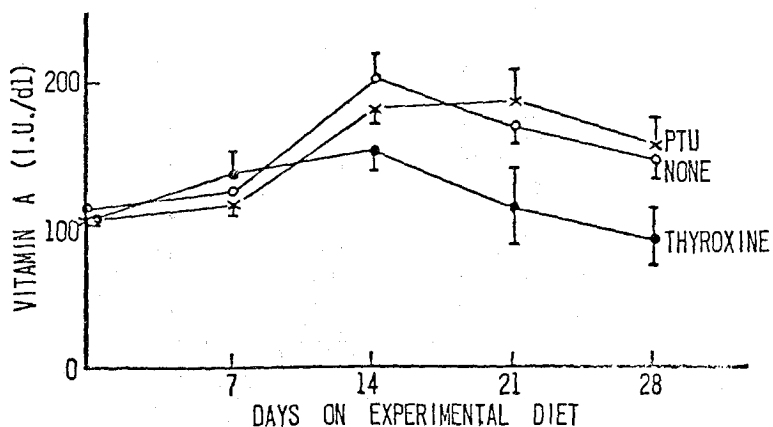


Fig. 7. Time course changes of serum vitamin A levels of the rats fed with three experimental diets. Each vitamin A level was exhibited as mean \pm S.E. for five rats.

Table 2. Effects of the thyroxine and PTU on the utilization of vitamin A.

Groups	Liver weight(g)	Vitamin A in liver		Vitamin A utilization (I.U./rat/day)
	Body weight(g)	Total(I.U.)	I.U./g-liver	
None	0.028	485 ± 52.4	62.9 ± 4.02	13.8 ± 2.74
Thyroxine	0.038	321 ± 49.9	*36.7 ± 6.34	19.6 ± 1.46
PTU	0.035	506 ± 62.5	53.5 ± 6.0	13.0 ± 2.52

Values are listed as mean ± S.E. for five rats.

* P<0.05 significantly different compared with not-supplemented group.

Table 3. Effect of thyroxine supplement in the diet on the formation of RBP-PA complex in rat serum.

Groups	Precipitable vitamin A		Supernatant vitamin A % of total	Molar ratio of VA-OH:PA
	µg/dl	% of total		
None	42.0 ± 2.35	97.6 ± 0.12	2.4 ± 0.11	0.26 ± 0.018
Thyroxine	35.4 ± 3.06	*84.5 ± 3.40	*15.5 ± 2.46	0.28 ± 0.031

All values are listed as mean ± S.E.M. for five rats.

* P<0.05 statistically different from not-supplemented group.

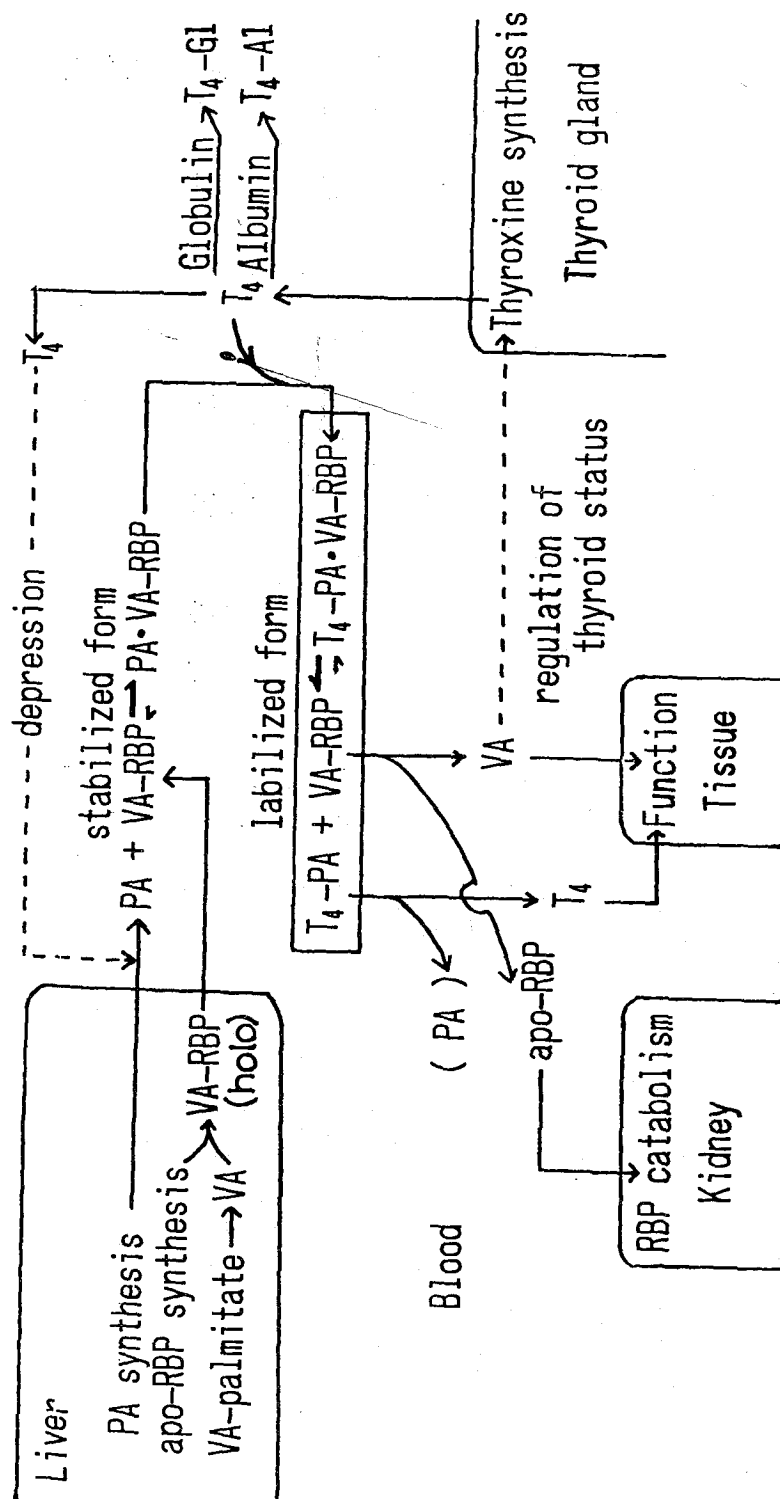


Fig. 8. Scheme of relation between the mobilization of RBP-PA complex and thyroid function.

審 査 結 果 の 要 旨

血中ではビタミンA (V. A) は、特異的な担体蛋白である Retinol binding protein (RBP) に結合しており、この形が V. A の輸送形態であるとされている。しかるに、この RBP の一部は、さらに甲状腺ホルモンの結合蛋白の一つとして知られている Thyroxine binding prealbumin (TBPA または PA) と 1 : 1 のモル比で結合していることが知られている。しかしこの RBP-V. A-PA 複合体の栄養生理的役割に関しては不明な点が多い。本研究は、この点を明らかにするために企てられたものである。

まず著者は V. A 欠乏が甲状腺機能に影響を与え、血中 Thyroxine レベルを低下させ、さらに RBP-V. A-PA 複合体の存在様式に影響を及ぼすことをたしかめた。そこで、RBP-V. A-PA 複合体の挙動を正確に把握するため、担体蛋白の同定および定量を目的として、複合体の単離、精製を試みた。その結果、RBP および PA をそれぞれラット血清より単離することができ、またそれらの性質についての知見もえられた。すなわち単離した PA を用いて PA に対する抗血清を作成し V. A 欠乏時あるいは投与時における PA の動態を免疫学的に定量し、PA は RBP とは挙動を異にしており、両担体はそれぞれ独立に肝で合成、分泌され、血中で安定な複合体 RBP-V. A-PA を形成するものであることが分った。著者は従来の知見と本研究の成果から、V. A の体内利用と甲状腺機能との関連を示す一つの Scheme を提出した。すなわち PA と結合していない RBP-V. A は細胞内にとりこまれ易い labile 型であり、Thyroxine が何等かの機作で、stable 型である RBP-V. A-PA 複合体を解離させて labile 型にする働きをしている。この結果、Thyroxine 過剰状態では labile 型のプールサイズを増加させ、血中 V. A の代謝回転を速めているという仮説である。事実、肝 V. A は Thyroxine 投与で明らかな減少が認められている。V. A 欠乏動物における甲状腺機能低下は、V. A の消失を防ぐフィードバックコントロールと考えられるわけである。

以上のように、本研究は、ビタミンAの生体内挙動に関する新しい知見を加え、ビタミン学の進展に貢献すること大であり、著者は農学博士の学位を授与される十分な資格があると判定した。